

35

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号  
特開2000-325091  
(P2000-325091A)

(43)公開日 平成12年11月28日(2000.11.28)

(51)Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テーマコード(参考)
C 1 2 N 15/09	Z N A	C 1 2 N 15/00	Z N A A
A 0 1 K 67/027		A 0 1 K 67/027	
C 0 7 K 14/47		C 0 7 K 14/47	
C 1 2 N 1/15		C 1 2 N 1/15	
1/19		1/19	

審査請求 未請求 請求項の数87 O L (全 59 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2000-81795(P2000-81795)	(71)出願人	000004569 日本たばこ産業株式会社 東京都港区虎ノ門二丁目2番1号
(22)出願日	平成12年3月17日(2000.3.17)	(72)発明者	秋山 清隆 神奈川県横浜市金沢区福浦1-13-2 日 本たばこ産業株式会社医薬探索研究所内
(31)優先権主張番号	特願平11-71390	(72)発明者	笹井 平 神奈川県横浜市金沢区福浦1-13-2 日 本たばこ産業株式会社医薬探索研究所内
(32)優先日	平成11年3月17日(1999.3.17)	(72)発明者	渡部 博貴 神奈川県横浜市金沢区福浦1-13-2 日 本たばこ産業株式会社医薬探索研究所内
(33)優先権主張国	日本 (J P)	(74)代理人	100102978 弁理士 清水 初志 (外1名)

(54)【発明の名称】 相同組換え用ジーンターゲットングDNAの製造方法及びcDNAライブラリーのスクリーニン

(57)【要約】 グ方法

【課題】 医薬品の研究開発に有用なノックアウト動物やノックイン動物の製造に必須である相同組換え用ターゲットングDNA(ベクター)の製造に要する労力、期間及びコストを飛躍的に低減することができ、またESTのような短いDNA配列のジーンターゲットングにも適用可能な新規な製造方法、並びに該ターゲットングDNAによりジーンターゲットングされた細胞、細菌またはウイルスを正確に選別することができる新規な方法を提供する。

【解決手段】 標的DNA配列を含むゲノムDNA断片を分子内連結(自己環状化)させた環状ゲノムDNAをを鋳型とし、該標的DNA配列を基に設計した一対のプライマーDNAを用いた逆PCR反応(inverse PCR; inside-out PCR)を利用することにより、従来ターゲットングDNAの製造に必要であったブラークハイブリダイゼーションや制限酵素地図の作成を必要とせず、製造期間を約1/10以下に短縮可能な新規製造方法を見出した。

1/9/1

DIALOG(R)File 351: Derwent WPI

(c) 2008 The Thomson Corporation. All rights reserved.

0010580212

WPI Acc no: 2001-185036/200119

XRAM Acc no: C2001-055837

XRPX Acc No: N2001-132097

**Preparation of a gene targeting DNA for homologous recombination and screening of a cDNA library**

Patent Assignee: JAPAN TOBACCO INC (NISB)

Inventor: AKIYAMA K; SASAI T; WATABE H

Patent Family ( 1 patents, 1 &amp; countries )

Patent Number	Kind	Date	Application Number	Kind	Date	Update	Type
JP 2000325091	A	20001128	JP 200081795	A	20000317	200119	B

Priority Applications (no., kind, date): JP 199971390 A 19990317

Patent Details

Patent Number	Kind	Lan	Pgs	Draw	Filing Notes
JP 2000325091	A	JA	59	20	

**Alerting Abstract JP A**

NOVELTY - Preparation of targeting DNA for modifying part of a DNA sequence in an endogenous genome of a living body by homologous recombination, is new.

DESCRIPTION - Preparation of targeting DNA for modifying part of a DNA sequence in an endogenous genome of a living body by homologous recombination includes the following steps:

- A. DNA CL containing a genome DNA fragment containing the DNA sequence T is cleaved with restriction enzyme E1 at the restriction enzyme-recognizing sequence X, which can be cleaved by the restriction enzyme E1 present respectively outside of said DNA sequence T to prepare a genome DNA fragment L1 having cleaved end DNA sequences at both ends and containing the DNA sequence T;
- B. DNA fragment L1 is intermolecularly connected by the cleaved end of the DNA sequences to prepare a cyclic genome DNA C1 containing the restriction enzyme-recognizing DNA sequence X and sequence T;
- C. reverse polymerase chain reaction (PCR) is carried out using two primer DNAs P1 and P2 to prepare a recombinant genome DNA fragment L2;
- D. the end of L2 is digested by restriction enzymes E2 and E3 to prepare a recombinant genome DNA fragment L2' and it is connected to a linearized expression vector to prepare a cyclic genome DNA C2; and
- E. C2 is cleaved by restriction enzyme E1 to give a recombinant genome DNA fragment L3 and it is recovered as a targeting DNA.

USE - The method is useful for preparing targeting DNA.

Title Terms /Index Terms/Additional Words: PREPARATION; GENE; DNA; HOMOLOGUE; RECOMBINATION; SCREEN; CDNA; LIBRARY

**Class Codes**

International Patent Classification

IPC	Class Level	Scope	Position	Status	Version Date
A01K-0067/027	A	I	F	R	20060101
C07K-0014/47	A	I	L	R	20060101
C12N-0001/15	A	I	L	R	20060101
C12N-0001/19	A	I	L	R	20060101
C12N-0001/21	A	I	L	R	20060101
C12N-0015/09	A	I	L	R	20060101
C12N-0005/10	A	I	L	R	20060101
C12Q-0001/68	A	I	L	R	20060101
A01K-0067/027	C	I	F	R	20060101
C07K-0014/435	C	I	L	R	20060101

C12N-0001/15	C	I	L	R	20060101
C12N-0001/19	C	I	L	R	20060101
C12N-0001/21	C	I	L	R	20060101
C12N-0015/09	C	I	L	R	20060101
C12N-0005/10	C	I	L	R	20060101
C12Q-0001/68	C	I	L	R	20060101

File Segment: CPI; EngPI

DWPI Class: B04; D16; P14

Manual Codes (CPI/A-N): B04-E01; B04-E05; B04-F0100E; B04-K01K; B04-L05A; B04-P01A0E; B11-C08E5; B12-K04F; D05-H09; D05-H12A; D05-H12D1; D05-H18B

**Chemical Indexing**

Chemical Fragment Codes (M1):

\*01\* M905 M423 M720 N134 N135 N161 Q233 RA012P-K RA012P-P 105730-K 105730-P

\*02\* M905 M423 M720 N134 N135 N161 Q233 RA00NS-K RA00NS-P 93605-K 93605-P

Specific Compound Numbers: RA012P-K; RA012P-P; RA00NS-K; RA00NS-P

Derwent Chemistry Resource Numbers: (Linked) 105730-K; 105730-P; 93605-K; 93605-P; 105730-CL; 105730-PRD; 93605-CL; 93605-PRD

Key Word Indexing

\*1\* 105730-PRD 93605-PRD

**Original Publication Data by Authority****Japan****Publication No.** JP 2000325091 A (Update 200119 B)

Publication Date: 20001128

**PRODUCTION OF GENE TARGETTING DNA FOR HOMOLOGOUS RECOMBINATION AND SCREENING OF cDNA LIBRARY**

Assignee: JAPAN TOBACCO INC (NISB)

Inventor: AKIYAMA KIYOTAKA

SASAI TAIRA

WATABE HIROTAKA

Language: JA (59 pages, 20 drawings)

Application: JP 200081795 A 20000317 (Local application)

Priority: JP 199971390 A 19990317

Original IPC: C12N-15/09(A) A01K-67/027(B) C07K-14/47(B) C12N-1/15(B) C12N-1/19(B) C12N-1/21(B) C12N-5/10(B) C12Q-1/68(B)

Current IPC: A01K-67/027(R,A,I,M,JP,20060101,20051220,A,F) A01K-67/027(R,I,M,JP,20060101,20051220,C,F) C07K-14/435

(R,I,M,JP,20060101,20051220,C,L) C07K-14/47(R,I,M,JP,20060101,20051220,A,L) C12N-1/15(R,I,M,JP,20060101,20051220,A,L) C12N-1/15

(R,I,M,JP,20060101,20051220,C,L) C12N-1/19(R,I,M,JP,20060101,20051220,A,L) C12N-1/19(R,I,M,JP,20060101,20051220,C,L) C12N-1/21

(R,I,M,JP,20060101,20051220,A,L) C12N-1/21(R,I,M,JP,20060101,20051220,C,L) C12N-15/09(R,I,M,JP,20060101,20051220,A,L) C12N-15/09

(R,I,M,JP,20060101,20051220,C,L) C12N-5/10(R,I,M,JP,20060101,20051220,A,L) C12N-5/10(R,I,M,JP,20060101,20051220,C,L) C12Q-1/68

(R,I,M,JP,20060101,20051220,A,L) C12Q-1/68(R,I,M,JP,20060101,20051220,C,L)